

# **Uji Stabilitas Kadar Protein dalam Sediaan Kapsul *Freeze Dry* Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Menggunakan Metode Kjeldahl**

<sup>1</sup>Dita Relda Aprillanda, Mohamad Andrie, Wintari Taurina

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

Email : [ditarelda98@gmail.com](mailto:ditarelda98@gmail.com)

## **ABSTRAK**

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan salah satu ikan yang memiliki kandungan protein yang tinggi. Tetapi sebagian besar masyarakat kurang menyukai ikan gabus, karena rasa dan baunya yang amis. Oleh karena itu, digunakan alternatif untuk mengatasi masalah tersebut dengan cara memproses fase air ekstrak ikan gabus menggunakan metode pengeringan beku/*Freeze dry* (*lyophilization*) dan dikemas dalam sediaan kapsul. Sediaan kapsul digunakan karena kepraktisannya untuk memberikan kenyamanan bagi konsumen dan dapat menutupi bau amis dari ikan gabus selain itu cangkang kapsul berfungsi untuk menjaga bahan aktif dari pengaruh lingkungan sehingga diharapkan bisa menjaga stabilitasnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas kadar protein *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus yang dibuat dalam bentuk sediaan kapsul setelah disimpan selama 28 hari dengan suhu 30°C dan kelembaban 75%. Pengukuran kadar protein dilakukan pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, dan 28 untuk kemudian dianalisis dengan metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl merupakan metode standar yang digunakan untuk penetapan kadar protein. Berdasarkan hasil uji kadar protein sediaan kapsul *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) yang diuji selama 28 hari mengalami ketidakstabilan, dimana penurunan kadar yang signifikan dimulai dari hari ke-14 sedangkan sediaan yang tidak dikapsul mengalami ketidakstabilan dimulai dari hari ke-7. Stabilitas sediaan kapsul lebih besar dibandingkan dengan sediaan yang tidak dikapsul.

Kata kunci : Ikan gabus, *Freeze dry*, Stabilitas protein, Metode Kjeldahl

## **STABILITY TEST OF PROTEIN IN CAPSULES FREEZE DRY WATER PHASE OF Fish Cork (*Channa Striata*) EXTRACT BY *KJELDAHL* METHOD**

## **ABSTRACT**

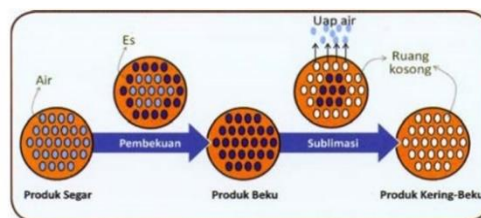
Cork fish (*Channa striata*) is one of the fish that has a high protein content. But most people do not like cork fish, because of its fishy taste and smell. Therefore, an alternative is used to overcome this problem by processing the water phase of cork fish extract using the freeze dry method (*lyophilization*) and packaged in a capsule preparation. The capsule is used because of its practicality to provide comfort for consumers and can cover the fishy smell of cork fish in addition to the capsule shell serves to keep active ingredients from environmental influences so that it is expected to maintain its stability. The purpose of this study was to determine the stability of the protein freeze dry phase of water cork fish extract made in capsule form after being stored for 28 days at a temperature of 30°C and 75% humidity. Measurement of protein content was carried out on days 0, 3, 7, 14, 21, and 28 to then be analyzed by the Kjeldahl method. The Kjeldahl method is a standard method used for determining protein content. Based on the results of the test, the protein content of the water phase freeze dry capsules of snakehead fish extract (*Channa striata*) which was tested for 28 days experienced instability, where a significant decrease in levels started from the 14th day while the non-

encapsulated preparations experienced instability starting from the 7th day. . The stability of capsule preparations is greater than that of non-capsules.

Keywords: Cork Fish (*Channa striata*), Freeze dry, Protein stability, Kjeldahl Method

## PENDAHULUAN

Ikan gabus (*Channa striata* sinonim (*Ophiocephalus striatus*) merupakan salah satu jenis ikan karnivora air tawar yang menghuni kawasan Asia Tenggara. Genus *Channa* terdiri dari 4 spesies yaitu *Channa striata* (ikan gabus), *Channa gachua* (ikan bakak), *Channa micropeltes* (ikan toman) dan *Channa lucius* (ikan bujok)<sup>(1)</sup>. Ikan gabus memiliki kadar protein yang cukup tinggi mencapai 25,5% dibandingkan protein ikan lainnya, albumin ikan gabus mencapai 6,22% dan daging ikan gabus mengandung mineral seng dengan kadar 1,74 mg/100 gram<sup>(2)</sup>.



**Gambar 1. Proses Freeze Dry<sup>(3)</sup>**

Pengeringan beku (*freeze dry*) adalah salah satu metode pengeringan yang mempunyai keunggulan dalam mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas<sup>(4)</sup>. Prinsip pengeringan beku (*Freeze dry*) terdiri dari dua urutan proses, yaitu proses pembekuan yang dilanjutkan dengan proses pengeringan. Dalam hal ini, proses pengeringan dilakukan setelah kondisi vakum pada suhu sangat rendah, berlangsung pada saat bahan sudah dalam keadaan beku kemudian dihilangkan air nya dengan mengubahnya dari bentuk beku (es) ke bentuk gas (uap air) tanpa melalui fase cair sehingga proses perubahan fase yang terjadi adalah sublimasi. Pada saat proses pembekuan terbentuk kristal-kristal es dalam bahan, yang mana saat proses pengeringan kristal es tersebut akan tersublimasi dan meninggalkan rongga (pori) didalam bahan. Keadaan bahan/senyawa bersifat porous setelah pengeringan, mudah sekali larut dalam air dan terjaga mutu dan kualitasnya<sup>(5)</sup>.

Kapsul merupakan sediaan padat yang terdiri dari obat dalam cangkang keras atau lunak yang dapat larut<sup>(6)</sup>. Sediaan kapsul digunakan karena kepraktisannya untuk memberikan kenyamanan bagi konsumen obat dan dapat menutupi rasa dan bau yang tidak enak pada obat. Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas sediaan kapsul antara lain suhu, kelembapan, waktu, kandungan dari sediaan, serta cangkang yang digunakan. Cangkang kapsul berfungsi untuk menjaga bahan aktif dari pengaruh lingkungan sehingga diharapkan bisa menjaga stabilitasnya. Penyimpanan kapsul sebaiknya dalam tempat atau ruangan yang<sup>(7)</sup>:

- Harus disimpan pada tempat atau ruangan dengan kondisi kelembapan tidak boleh terlalu rendah dan tidak terlalu dingin
- Wadah penyimpanan biasanya botol plastik dan diberi zat pengering (silika gel).

- c. Bila dikemas dalam bentuk strip atau blister maka wadah strip atau blister itu harus terbuat dari aluminium foil.

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, mutu, dan kemurnian produk tersebut, artinya sifat-sifat khasnya sama seperti pada saat dibuat<sup>(8,9)</sup>. Stabilitas kimia suatu obat adalah lamanya waktu suatu obat untuk mempertahankan integritas kimia dan potensinya seperti yang tercantum pada etiket dalam batas waktu yang ditentukan. Secara reaksi kimia zat aktif dapat terurai karena beberapa faktor diantaranya adalah oksigen (oksidasi), air (hidrolisis), suhu (oksidasi), cahaya (fotolisis), karbondioksida (turunnya pH larutan). Selain itu, faktor luar juga memengaruhi ketidakstabilan kimia seperti suhu, kelembapan udara dan cahaya<sup>(10)</sup>.

Penetapan kadar protein dengan metode Kjeldahl merupakan metode tidak langsung yaitu melalui penetapan kadar N dalam bahan yang disebut protein kasar. Diperlukan faktor konversi (F) untuk menghitung kadar protein total dan kadar nitrogen. Faktor konversi 6,25 (setara dengan 0,16 g nitrogen per gram protein) digunakan maka diperoleh nilai protein dalam bahan makanan tersebut. Prinsip analisis protein dengan metode Kjeldahl meliputi destruksi, destilasi dan titrasi.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat *press* hidrolik (modifikasi), alat sentrifugasi (PLC Series), alat *freeze dryer* (Labconco model 7948030 Freezone-Stoppering Tray Dryers buatan Amerika), seperangkat alat Kjeldahl (Buchi), beaker glass 250 mL (Pyrex), labu ukur 10 mL (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), timbangan analitik (Denver Instrumen), alat pencetak kapsul. Bahan utama yang digunakan adalah fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*), asam borat p.a (Merck), asam klorida p.a (Merck), asam sulfat pekat p.a (Merck), aquadest, natrium hidroksida p.a (Merck), copper (II) sulfat p.a (Merck), pH standar 6,86 dan 4,01 (TOA), natrium sulfat p.a (Merck).

## **TAHAPAN PENELITIAN**

### **Determinasi Hewan**

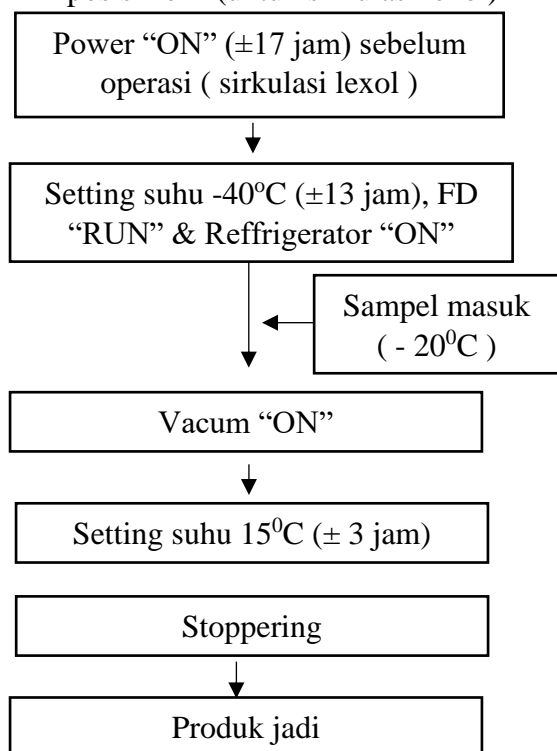
Ikan gabus (*Channa striata*) yang digunakan dideterminasi di Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

### **Pengolahan Sampel**

Daging ikan gabus yang sudah dibersihkan dikukus dalam panci selama  $\pm 30$  menit pada kompor gas dengan suhu 70° C, kemudian daging ikan gabus ini dibungkus dengan kain serbet dan dimasukkan ke dalam alat *press* hidrolik. Kemudian ekstrak disentrifugasi selama 60 menit pada kecepatan 6000 rpm, setelah itu ekstrak ikan gabus dipisahkan fase minyak, fase air, dan pengotor (endapan) menggunakan pipet tetes. Fase air yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu disimpan di dalam wadah yang ditutup dengan aluminium foil dan *clean pack*.

### Freeze Dry

Fase air ekstrak ikan gabus yang digunakan 1500 ml. Dimasukkan ke dalam tabung dengan volume fase air nya disamaratakan kemudian tabung dimasukkan kedalam alat *freeze dryer*. Proses pengeringan secara otomatis, keadaan *Freeze dry* dipastikan bahwa power dalam posisi "off", semua tombol dan valve dalam posisi "off" dan "close". Setelah kabel "power" dihubungkan dengan sumber arus PLN, tombol power ditekan ke posisi "on" (untuk sirkulasi lexol)  $\pm 24$  jam sebelum dioperasikan<sup>(11)</sup>.



**Tabel 1. Mekanisme *freeze dryer***

### Pembuatan Sediaan Kapsul dan Uji Stabilitas

Hasil *freeze dry* yang di dapat dihaluskan. Setelah itu serbuk hasil *freeze dry* tersebut dibuat dalam sediaan kapsul menggunakan alat pencetak kapsul. Setiap kapsul mengandung 500 mg serbuk *freeze dry*. Lalu dilakukan uji stabilitas yang dilakukan selama 28 hari dengan suhu 30°C dan kelembaban 75% dimana pengambilan sampel dilakukan pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21 dan 28. Sediaan disimpan di dalam sebuah alat uji stabilitas yang didalamnya terdapat pengatur suhu dan kelembaban (*humidifier*).

### Penetapan Kadar Dengan Metode Kjeldahl

#### Tahap Destruksi

Ditimbang 1 gram sampel dan masukkan ke dalam labu Kjeldahl, kemudian tambahkan 15 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Tambahkan katalisator 10 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 0,30 g CuSO<sub>4</sub> untuk mempercepat destruksi. Kemudian labu Kjeldahl dipanaskan dalam rangkaian alat destruksi sekitar 2 jam pada suhu 480°C. Pemanasan dihentikan apabila telah terbentuk cairan jernih kehijauan. Cairan jernih kehijauan terbentuk karena ikatan kompleks antara (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan Cu<sup>(12)</sup>.

## Tahap Destilasi

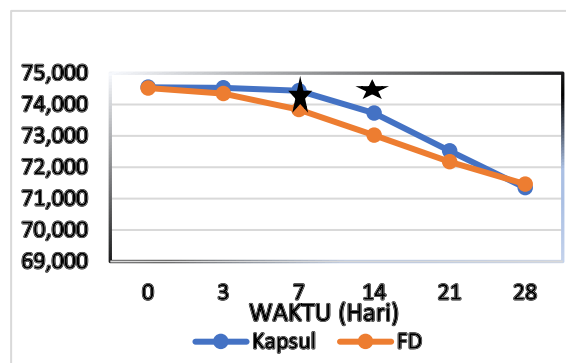
Pasang labu Kjeldahl pada alat destilasi. Hasil destruksi yang didapatkan kemudian didinginkan, lalu dimasukkan ke alat destilasi dan titrasi yang sebelumnya pada alat sudah ditambahkan  $B(OH)_3$  3% sebanyak 60 ml. Setelah itu sampel akan diencerkan dengan aquadest sampai ad 50 mL. Setelah homogen dan dingin, ditambahkan 90 mL larutan NaOH 32% sehingga cairan bersifat asam. Destilasi dilakukan selama 4 menit dan pemanasan dilakukan hingga ammonia menguap semua<sup>(12)</sup>.

## Tahap Titrasi

Setelah proses destilasi, tahap selanjutnya adalah titrasi. Hasil destilasi yang ditampung kemudian direaksikan dengan larutan  $B(OH)_3$  3%. Hasil reaksi tersebut yaitu  $B(OH)_4^-$  (ion borat) kemudian dititrasi dengan  $H_2SO_4$  0,25 N. Titrasi dilakukan menggunakan pH  $B(OH)_3$  yaitu 4,65. Dimana pada saat titrasi semakin basa pH  $B(OH)_3$  berarti semakin banyak volume  $H_2SO_4$  yang digunakan dan semakin tinggi kadar protein pada sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Pengukuran Kadar Protein



Ket : Tanda (★) menandakan terjadi penurunan kadar yang signifikan.

Gambar 2. Grafik Persentase Penurunan Kadar Protein

Hasil yang diperoleh diketahui bahwa kadar protein fase air ekstrak ikan gabus (*channa striata*) yang dikapsul mengalami penurunan dimana pada hari ke-0 kadar proteinnya sebesar 74,550% sedangkan pada hari ke-28 kadar proteinnya 71,350% dengan selisih kadar yaitu sebesar 3,200%. Sedangkan yang tidak dikapsul juga mengalami penurunan dimana pada hari ke-0 kadar proteinnya sebesar 74,527%, pada hari ke-28 sebesar 71,467% dengan selisih kadar yaitu 3,060%.

## Analisis Statistik

Berdasarkan hasil uji statistik yang dianalisa dengan *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%, atau dengan nilai  $\alpha$  0,05<sup>(13)</sup>. Kadar sediaan kapsul *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) pada hari ke-0 yang dibandingkan dengan hari ke-3 dan hari-7 tidak mengalami perbedaan kadar yang signifikan. Tetapi kadar sediaan kapsul hari ke-0 yang dibandingkan dengan hari ke-14 kapsul sudah mengalami perbedaan kadar yang signifikan. Begitu juga dengan hari ke-21 dan 28 juga

terdapat perbedaan kadar yang signifikan. Hal ini membuktikan bahwa penurunan % kadar protein sediaan kapsul mengalami ketidakstabilan dimulai dari hari ke-14.

Kadar protein *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus yang dibuat dalam sediaan kapsul dibandingkan kontrol yaitu dengan *freeze dry* yang tidak dikapsul dianalisa dengan *independent t-test*. Berdasarkan hasil uji statistik nilai Sig. (2-tailed) >0,05 yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara sediaan yang dikapsul dengan yang tidak dikapsul.

## PEMBAHASAN

Produk *freeze dry* ini dapat meninggalkan kadar air sampai 1%, sehingga produk bahan alam yang dikeringkan menjadi stabil dan sangat memenuhi syarat untuk pembuatan sediaan farmasi dari bahan alam yang kadar airnya harus kurang dari 10%<sup>(5)</sup>. Sehingga dengan dibuat sediaan kapsul ataupun tidak dikapsul tidak mempengaruhi kadar protein pada *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) tersebut. Tetapi produk hasil *freeze dry* meninggalkan rongga (pori) bersifat porous setelah pengeringan dan mudah sekali larut dalam air. Jadi ketika sediaan disimpan dalam kelembaban yang tinggi maka kadar air pada sediaan juga akan meningkat sehingga dapat memicu timbulnya bakteri yang akan mengkontaminasi protein dan akan mempengaruhi stabilitas protein didalam kapsul. Selain itu penurunan terjadi karena proses metode *kjeldahl* yang memiliki tahap-tahapan (destruksi, destilasi, dan titrasi) dimana pada tiap tahapan sampel mengalami proses kimia disertai perubahan suhu yang menyebabkan kadar protein dari ikan gabus menurun. Tetapi penggunaan sediaan kapsul mempermudah pasien dalam mengkonsumsi obat tersebut, pasien dapat mengatur dosis yang digunakan, dan dapat melindungi dari rasa dan bau amis dari ikan gabus yang kurang disukai oleh sebagian besar masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Fitriyani, E, Deviani, I.M. Pemanfaatan Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Channa striata*) Sebagai Bahan Dasar Cream Penyembuh Luka. Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak. 2013 ; 09 (03) : Hal.166-174.
2. Carvallo, 1998. Studi Profil Asam Amino, Albumin dan Mineral Zn Pada Ikan Gabus dan Tondang. (Skripsi). Unibraw Malang.
3. Foodreview Indonesia. Freeze Drying Technology : for Better Quality & Flavor of Dried Products. Foodreview Indonesia. 2013 ; 07(02) : Hal 52-56.
4. Yana, M.I, Kusnadi, J. Pembuatan Yogurt Berbasis Kacang Tunggak (*Vigna Unguiculata*) dengan Metode Freeze Drying (Kajian Jenis dan Konsentrasi Bahan Pengisi). Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2015 ; 03 (03) : Hal. 1204.
5. Yulvianti M., Ernayati W., Tarsono., Alfian R. Pemanfaatan Ampas Kelapa Sebagai Bahan Baku Tepung Kelapa Tinggi Serat dengan Metode Freeze Drying. Jurnal Integrasi Proses. 2015 ; 5 (2) : Hal 101 – 107.
6. Gadri, A,Priani, S.E. Stabilitas Kadar dan Laju Disolusi Ketoprofen dalam Sediaan Kapsul Gelatin dan Hpmc-Karagenan. Prosiding SNaPP 2012 : Sains, Teknologi, dan Kesehatan. 2012 ; 03 (01) : Hal 87. ISSN:2089-3582.
7. Ansel, HC. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi (Ed.4). Jakarta : UI PRESS. 1989.
8. Anief. Ilmu Farmasi. Jakarta : UI PRESS. 1986.

9. Lachman L. Teori dan Praktek Farmasi Industri (Ed. 3, Jilid 2). Depok : UI PRESS. 1994. Hal 797-798.
10. Voight. R., Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V. Yogyakarta : UGM Press. 1995.
11. Anna R., Suhandar, Jakaria, dan Suharmadi. Uji Fungsi Freeze Dryer Radiofarmaka. Pusat Radioisotop Dan Radiofarmaka – BATAN. Prosiding Seivlinar Penelitian dan Pengelolaan Perangkat Nuklir. 2013 ; 01 : Hal 62.
12. Rosaini, H, Rasyid, R, Hagramida, V. Penetapan Kadar Protein Secara Kjeldahl Beberapa Makanan Olahan Kerang Remis (*Corbiculamoltkiana prime.*) dari Danau Singkarak. Jurnal Farmasi Higea. 2015 ; 7 ( 2 ).
13. Riwidikdo, handoko. Statistik Kesehatan. Nuha Medika. Yogyakarta : 2012.